

## بررسی بیان ژن گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR) در بیماران مبتلا به سرطان مری

زهرا میر<sup>۱</sup>، غلامرضا مطلب<sup>۲\*</sup>، مهتا مظاهری<sup>۳</sup>، شهلا نجفی<sup>۴</sup>

گروه زیست شناسی، دانشگاه زابل، پردیس خودگردان، ایران؛ گروه زیست شناسی، دانشگاه زابل، زابل، ایران؛ گروه ژنتیک، دانشگاه علوم

پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۳۰

تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۱۲

### چکیده:

**زمینه و هدف:** سرطان مری هشتمین سرطان شایع و ششمین علت مرگ ناشی از سرطان در سراسر جهان است. در ایران سرطان مری دومین و سومین سرطان شایع به ترتیب در مردان و زنان ایرانی است. گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی یک دریافت کننده تیروزین کینازی از خانواده ErbB است که اختلال در بیان آن در پاتوفیزیولوژی بسیاری از بدخیمی ها با منشأ اپیتلیال از جمله سرطان مری دخالت داشته و فاکتور مهمی در بررسی پیش آگهی و مرحله پیشرفت بالینی بیماری است. در این پروژه تحقیقاتی، بیان ژن EGFR در بیماران مبتلا به سرطان مری در ایران مورد بررسی قرار گرفت.

**روش بررسی:** این تحقیق به روش مطالعه هم گروهی تاریخی انجام گرفت. ۳۰ نمونه بافت پارافینه سرطان مری و سالم جهت اندازه گیری سطح بیان ژن EGFR توسط RT-qPCR آنالیز گردید. واکنش های PCR برای ژن های EGFR و کنترل داخلی ( $\beta$ -actin) توسط روش (Livac) انجام شد. همه آنالیزها توسط نرم افزار SPSS (SPSS, Inc., Chicago, IL) انجام شد.

**یافته ها:** نتایج نشان داد اختلاف معنی داری بین بیان ژن EGFR در افراد بیمار و سالم وجود دارد ( $P < 0.05$ ). به نحوی که بیان ژن EGFR در افراد بیمار ۴/۲۵ برابر بیشتر از افراد سالم بود. **نتیجه گیری:** EGFR در افراد بیمار نسبت به گروه کنترل افزایش بیان نشان داد که شاید بتوان از آن به عنوان بیومارکر احتمالی در سرطان مری در جمعیت ایرانی استفاده نمود.

**واژه های کلیدی:** سرطان مری، گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی، RT-qPCR.

### مقدمه:

داشته باشد (۴). تغییرات ژنتیکی از عوامل مهم در ایجاد سرطان مری می باشد (۵).

در بسیاری از موارد تغییرات ژنتیکی مشخصی به طور مشترک در نوع آدنوکارسینوم مری (EAC) و کارسینوم سلول سنگفرشی مری (ESCC) مشاهده شده است، اما در برخی از موارد بیان مکرر و نابجای ژن ها در یکی از انواع سرطان مری بیش از نوع دیگر ذکر شده است. (۶). مطالعات مولکولی سرطان مری، ناهنجاری های ژنتیکی را در ژن های EGFR, p16, p53،

سالانه ۳۵۰۰۰-۳۰۰۰۰ ایرانی به علت سرطان می میرند (۲،۱). سرطان مری یکی از ۸ سرطان شایع و ششمین علت مرگ ناشی از سرطان در سراسر جهان است (۲). سرطان مری دومین و سومین سرطان شایع در مردان و زنان ایرانی است (۳). این سرطان به انواع گوناگونی تقسیم می شود که دو نوع کارسینوم سلول سنگفرشی مری (ESCC) و آدنوکارسینوم مری (EAC) آن بسیار رایج است. اگر این سرطان درمان نشود می تواند به گره های لنفی، استخوان، کبد، ریه ها متاستاز

\*نویسنده مسئول: زابل - دانشگاه زابل - گروه زیست شناسی - تلفن: ۰۹۳۸۶۹۰۲۲۰۱، E-mail: reza.motaleb@uoz.ac.ir

## روش بررسی:

در این پژوهش آزمایشگاهی، تعداد ۱۵ بلوک پارافینه برای گروه بیمار (سرطان مری) و ۱۵ بلوک پارافینه برای گروه کنترل (سالم) بر اساس داده‌های پرونده بالینی بیماران تهیه و جنسیت افراد تعیین گردید. متأسفانه در مطالعه ما اطلاعات مربوط به پرونده بالینی بیماران به صورت دقیق ثبت نشده بود و این از محدودیت‌های تحقیق ما می‌باشد. هر دو گروه بیمار و کنترل از نظر جنس تا حد امکان یکسان انتخاب شدند. در گروه ۱۵ نفری بیماران، تعداد ۱۰ نفر (۶۶/۶٪) زن و تعداد ۵ نفر (۳۳/۳٪) مرد بودند. تعداد افراد کنترل نیز در این پژوهش ۱۵ نفر بود که در این میان ۸ نفر مرد (۵۳/۳٪) و ۷ نفر (۴۶/۷٪) زن بودند.

به منظور پارافین زدایی یک میلی لیتر زایلن (Merck, Germany) به تیوب حاوی نمونه اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید و پس از آن با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ (Eppendorf, Hamburg) گشت. مایع رویی در تیوب بدون آسیب به رسوب زیرین برداشته شد. این مراحل ۲ تا ۳ بار انجام گردید.

به منظور حذف زایلن نمونه‌ها با ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول (Memert, Model 100-800) درصد شست‌وشو داده شد و سپس با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm ۱ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از آن جهت خشک کردن نمونه‌ها و حذف باقیمانده اتانول، تیوب‌ها را با درب باز در دمای بالاتر از ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه (Memert, Model 100-800) شده تا کاملاً باقیمانده اتانول حذف گردد.

برای استخراج RNA کل از نمونه‌های توموری و کنترل از کیت استخراج RNA از بافت پارافینه شرکت کیاژن (RNeasy®) استفاده و بر اساس پروتکل تعیین شده‌ی شرکت سازنده استفاده شد. کمیت و کیفیت RNA به ترتیب با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری (Scandrop, Analytika, Germany)

COX-2، c-MYC، APC، p21، hTERT، iNOS، VEGF، TGTα، NF-κB در EAC و ESCC نشان داده‌اند (۷). این ژن‌ها ممکن است برخی دیگر از انکوژن‌ها را فعال کنند (۸).

گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR) یک انکوژن است که از ۲۸ آگرون به طول ۱۸۸Kb تشکیل شده است و بر روی کروموزوم ۷ انسان قرار دارد (۹). فاکتور رشد اپیدرمی یکی از اعضای مهم خانواده پرتوانکوژن ErbB است، خانواده ErbB یک زیر رده از گیرنده‌های تیروزین کینازی است که دارای ۴ عضو، شامل: ErbB1/HER1، ErbB2/HER2، ErbB3/HER3 و ErbB4/HER4 می‌باشد.

EGFR در پاتوفیزیولوژی بسیاری از بدخیمی‌ها با منشأ اپیتلیال دخالت دارد. این ژن نقش مهمی در بررسی پیش‌آگهی و پیشرفت مرحله بالینی بیماری دارد. بین سطوح بالای EGFR در سرطان مری از نوع سنگفرشی و تهاجم به عروق و پیش‌آگهی ضعیف بیماری، ارتباط معنی‌داری گزارش شده است (۱۰). تعیین اختلالات این ژن همچنین می‌تواند در میزان کنترل بیماری در مواردی که استفاده از آنتی‌بادی‌های علیه آن در درمان به کار گرفته شود، نقش داشته باشد (۱۱).

در کشورهای مختلف دنیا مطالعاتی بر روی جهش‌های EGFR در انواع سرطان‌ها با تعداد محدودی رده سلولی انجام شده است. بررسی این ژن از نظر ژنتیکی مخصوصاً در زمینه سرطان از اولویت خاصی برخوردار است، به طوری که امروزه در مطالعات ژنتیک سرطان بررسی میزان بیان این ژن روش توصیه شده برای تعیین اختلالات ژنتیکی در سرطان‌ها است (۱۲). با توجه به اینکه سابقه پژوهش در مورد ژن EGFR در بیماران مبتلا به سرطان مری با تکنیک Real-time PCR در ایران وجود ندارد. لذا سؤالی که در این پژوهش پاسخ خواهیم داد این است که آیا EGFR در بیماران مبتلا به سرطان مری افزایش بیان نشان می‌دهد؟

بر اساس جذب نور و با آنالیز نسبت A260/A280 مورد بررسی قرار گرفته و توسط فرمول زیر غلظت RNA تعیین گشت.

عکس ضریب رقت  $40 \times 40 \times$  جذب در ۲۶۰ نانومتر = غلظت RNA در محلول بر حسب میکروگرم در میلی لیتر (۱۳).

به منظور سنتز cDNA از RNA استخراجی به میزان ۱۰۰۰ نانوگرم استفاده شد. تمام مراحل کار توسط کیت 2-Steps RT-PCR kit ساخت شرکت Vivantis و بر مبنای پروتکل آن انجام گرفت. در این تحقیق ژن  $\beta$ -actin به عنوان کنترل داخلی انتخاب شد. آغازگرهای ژن کنترل داخلی و *EGFR* توسط نرم افزار Primer 3 طراحی و با میانجی گری شرکت ژن فناوران، از شرکت

TAGC دانمارک تهیه و به صورت لیوفیلیزه دریافت گردیدند. تمام آغازگرهای طراحی شده کاوش (Blast) شدند تا اتصال آن‌ها به طور اختصاصی صورت گیرد. توالی آغازگرهای مورد استفاده در این واکنش در جدول شماره ۱ آمده است. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر با استفاده از ۲ میکرولیتر از cDNA سنتز شده و توسط کیت 2-Steps RT-PCR kit شرکت Vivantis بر طبق برنامه تعیین شده انجام گرفت. برنامه دمایی PCR به این ترتیب صورت گرفت: مرحله آغاز ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه، برای ۴۰ سیکل ۹۵ درجه به مدت ۲۰ ثانیه، دمای ۶۲ درجه به مدت ۲۰ ثانیه، ۷۲ درجه به مدت ۲۰ ثانیه و مرحله تکثیر نهایی ۷۲ درجه به مدت ۸ دقیقه.

#### جدول شماره ۱: توالی آغازگرهای استفاده شده در واکنش PCR

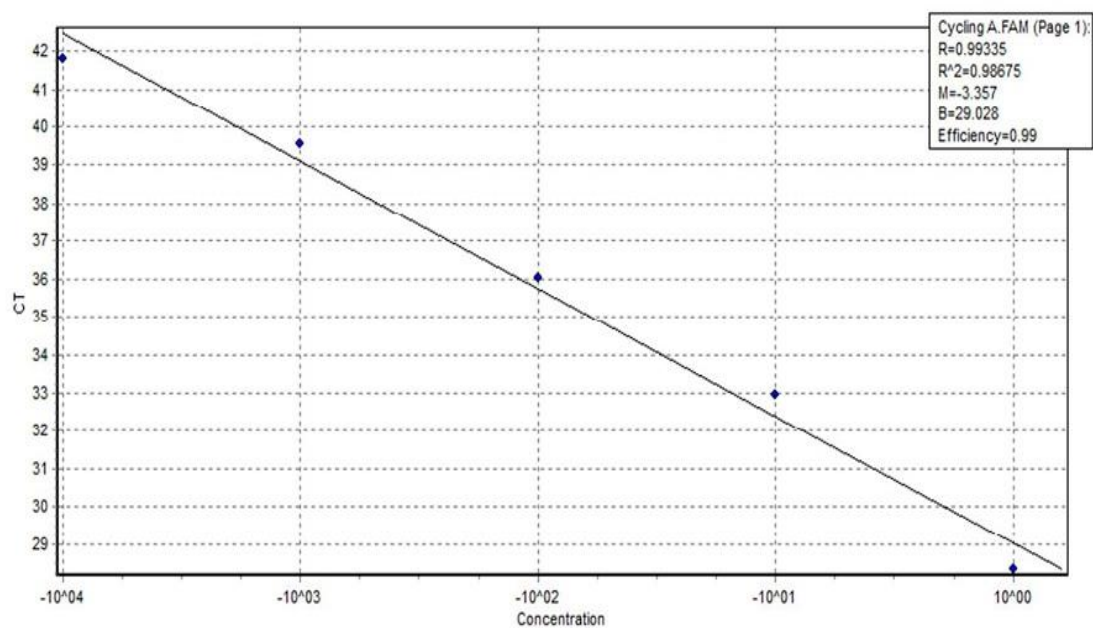
ژن	پرایمر فوروارد	پرایمر ریورس
<i>EGFR</i>	TTCCTTCTTAAAGACCAT	ATAGTTAGATAAGACTGCTA
$\beta$ -actin	GAAGATCAAGATCATTGCTCC	CTAAGTCATAGTCCGCCTAG

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز در زمان واقعی (Quantitative real-time PCR) با استفاده از دستگاه Lightcycler (Corbett 3000, Australia) انجام شد. تمام واکنش‌ها در ۳ تکرار انجام شده و داده‌ها توسط متد  $2^{-\Delta\Delta CT}$  آنالیز گردید (۱۴، ۱۵). سپس با استفاده از نرم افزار SPSS و انجام آزمون t-test داده‌ها مقایسه گردید.

#### یافته‌ها:

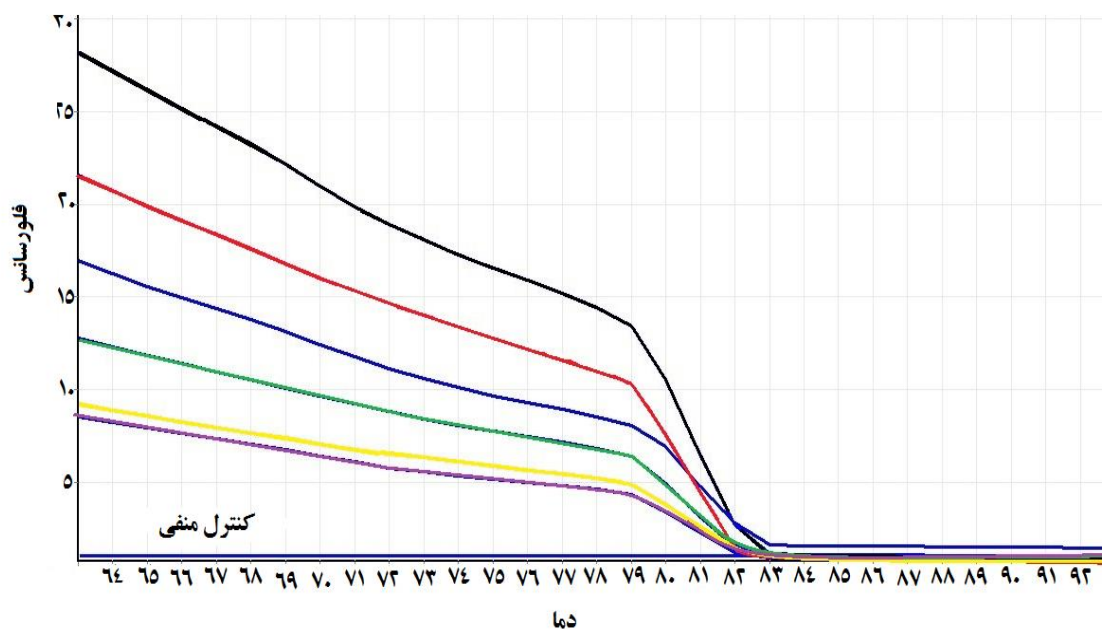
در این پژوهش، در گروه ۱۵ نفری بیماران، تعداد ۱۰ نفر (۶۶/۶٪) زن و تعداد ۵ نفر (۳۳/۳٪) مرد بودند. تعداد افراد کنترل نیز در این پژوهش ۱۵ نفر بود که در این میان ۸ نفر مرد (۵۳/۳٪) و ۷ نفر (۴۶/۷٪) زن بودند. دمای مناسب برای هر دو ژن

دمای ۶۲ درجه سانتی گراد به دست آمد. پس از رسم منحنی استاندارد بازده واکنش برای ژن  $\beta$ -actin محاسبه گردید. بازده واکنش برابر با یک و میزان  $R^2$  برابر ۰/۹۹ به دست آمد. نرم افزار سرعت تغییرات را به صورت Relative Fluorescence Unit در محور y و دمای دستگاه را در محور x نشان می‌دهد (۱۶). برای ژن  $\beta$ -actin، کاهش ناگهانی شدت نور فلورسانس در دمایی حدود ۸۲/۵ درجه دیده شد. این مسئله بیانگر این است که  $T_m$  محصول ژن  $\beta$ -actin حدود ۸۲/۵ درجه می‌باشد. همانند روش رسم منحنی استاندارد برای ژن  $\beta$ -actin، منحنی استاندارد برای ژن *EGFR* نیز رسم شد (نمودار شماره ۱). برای ژن *EGFR* بازده واکنش برابر با ۰/۹۹ و میزان  $R^2$  برابر با ۰/۹۸ به دست آمد.



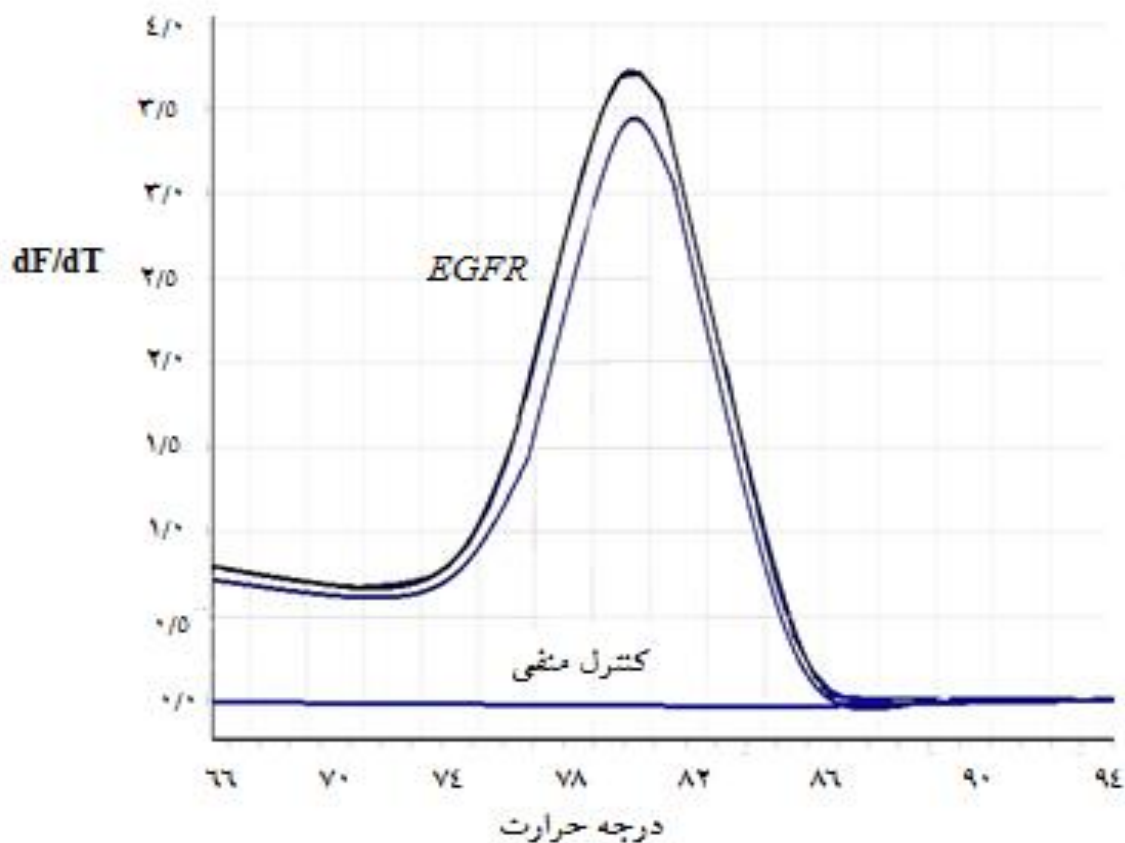
نمودار شماره ۱: منحنی استاندارد ژن *EGFR*

با افزایش دما، شدت نور فلورسانس با شیب  
 ثابتی کاهش پیدا می کند تا زمانی که دما به حدود ۷۹  
 درجه که  $T_m$  محصول واکنش PCR است می رسد  
 (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲: تغییرات فلورسانس بر حسب دما برای ژن *EGFR*

در این منحنی دما در محور افقی و شدت نور فلورسانس در محور عمودی قرار دارد. منحنی ها در دمای ۷۹ درجه دچار شکست شده اند.



نمودار شماره ۳: منحنی ذوب ژن EGFR

هر *Peak* نمایانگر یک محصول *PCR* است که اختصاصی بودن محصول را نشان می دهد. موقعیت پیک موجود در آن نشان دهنده دمای ۷۹ درجه سانتی گراد،  $T_m$  محصول ژن EGFR می باشد.

### بحث:

در این مطالعه، بررسی بیان ژن EGFR در سرطان مری در دو گروه سالم و بیمار با تکنیک Real Time-PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مشخص کرد که تفاوت معنی دار آماری از لحاظ میزان بیان ژن EGFR در بین افراد بیمار و سالم وجود داشت و همچنین مشخص شد بین بیان ژن EGFR و جنسیت در دو گروه بیمار و سالم اختلاف وجود ندارد.

مطالعات زیادی نقش ژن EGFR را در سرطان های مختلف مرتبط دانسته اند از جمله Motaleb و همکاران، افزایش بیان ۸۰٪ ژن EGFR را در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال با استفاده از روش RT-qPCR برای اولین بار در ایران گزارش و اثبات نمودند (۱).

در بین افراد بیمار و سالم مورد مطالعه تفاوت معنی دار آماری از لحاظ میزان بیان ژن EGFR وجود داشت ( $P < 0.05$ ). میزان افزایش بیان EGFR با استفاده از قانون Livac نشان داد که بیان ژن در افراد بیمار به میزان ۴/۲۵ برابر نسبت به افراد سالم بیشتر است.

### جدول شماره ۲: بیان ژن گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی

در دو گروه بیمار و کنترل با استفاده از قانون Livac

گروه	بیان EGFR
کنترل	$0.16 \pm 0.05$
سرطان	$0.68 \pm 0.02$
نتیجه آزمون	$P < 0.05$

همچنین Larysz و همکاران، بیان ژن *EGFR* را در ۷۵ تومور گلیوما توسط روش Real-time PCR مورد بررسی قرار داده و افزایش بیان این ژن را در ۱۲/۲٪ از نمونه‌ها مشاهده کردند (۱۷). جهانبانی و همکاران نیز به بررسی بیان ژن *EGFR* بر روی ۴۰ نمونه پارافینه بیمار مبتلا به سرطان دهان که تشخیص قطعی ضایعه برای آن‌ها به روش میکروسکوپی داده شده بود، پرداختند و آنالیز داده‌های آن‌ها افزایش بیان *EGFR* را در حدود ۴۵٪ نمونه‌ها نشان داد (۱۸).

*EGFR* یک گیرنده تیروزین کینازی است که یکی از اعضای خانواده ErbB می‌باشد. این ژن روی بازوی کوتاه کروموزوم ۷ انسان قرار گرفته و واسطه چندین مسیر سیگنالی است و اطلاعات را جهت تغییر در بیان ژن‌ها و تنظیم رشد و تمایز سلولی از خارج سلول به داخل آن هدایت می‌کند (۱). از زمانی که *EGFR* به عنوان انکوژن شناخته شد، شیوه‌های درمانی ضد سرطانی با هدف قرار دادن *EGFR* توسعه پیدا کرده است (۹).

یکی از دلایل مهم در هدف قرار دادن این ژن فعال شدن نابجای شبکه سیگنالینگ آن در اغلب سرطان‌ها است و یکی از دلایل فعال‌سازی نابجای شبکه سیگنالینگ *EGFR* می‌تواند افزایش بیان اعضای خانواده‌اش باشد (۱۹). افزایش بیان *EGFR* در دیسپلازی درجه بالای مری بارت (Barrett's esophagus) مشاهده شده است و می‌تواند به عنوان یک مارکر برای تشخیص بدخیمی به کار رود (۲۰).

گاهی اوقات افزایش بیان *EGFR* در ESCC با تکثیر ژنی مرتبط دیده شده و بین سطوح بالای *EGFR* و HER-2 در سرطان مری از نوع سنگفرشی (اسکواموس) و تهاجم به عروق و پیش‌آگهی ضعیف بیماری، ارتباط معنی‌داری گزارش شده است (۲۱،۱۰). در حال حاضر، ژن درمانی به عنوان یک روش درمانی بالقوه در کنترل فرایندهای ژنتیکی سلول‌های سرطانی و نیز درمان بیماری‌های متابولیک در حال بررسی و پیشرفت است. زمینه فعالیت ژن درمانی سرطان بسیار

وسیع بوده و از جایگزین کردن یک ژن سرکوبگر تومور که جهش یافته یا حذف شده تا تحریک سیستم ایمنی بر علیه سلول‌های سرطانی متغیر است.

بنابراین، بررسی‌های ژنتیکی ژن‌هایی از قبیل *EGFR* می‌تواند کمک شایانی به پیشرفت این روش نماید (۸). آنالیز بیان ژن می‌تواند در فراهم کردن اطلاعاتی در زمینه‌ی عوامل موثر در پیش‌آگهی و یا پیش‌بینی بیماری در کارهای آزمایش‌ها کلینیکی مفید واقع شود. پیشرفت‌های تکنولوژیکی از قبیل توسعه سیستم حساس Real time PCR اندازه‌گیری کمی سریع و دقیق مقادیرهای اندکی از mRNA را فراهم می‌کند (۲۲).

بررسی *EGFR* موجب انتخاب بهتر افراد کاندید برای درمان با آنتی‌بادی‌های مونوکلونال *EGFR* می‌شود چون مطالعات نشان داده‌اند که با مسدود کردن جایگاه اتصال لیگاند *EGFR* به وسیله یک مونوکلونال آنتی‌بادی می‌توان حساسیت به اشعه را در تومور افزایش داد و مسدود کردن فعالیت *EGFR* یک استراتژی جدید و کلیدی در مراقبت از بیماران است. چون این استراتژی درمانی عملکردهای حیاتی سلول سرطانی را که با تکثیر و بقا مرتبط هستند، مختل می‌کند.

متأسفانه به دلیل عدم دسترسی به پرونده‌های پزشکی بیماران و پیگیری روند درمان آن‌ها بررسی اثرات افزایش بیان ژن *EGFR* روی میزان بقای بیماران و دیگر ویژگی‌های کلینیکی و پاتولوژی در این مطالعه امکان‌پذیر نبود؛ بنابراین نمی‌توان با قطعیت در مورد ارتباط افزایش بیان و میزان پیشرفت بیماری نظری را اعلام کرد، اما با توجه به این موضوع که فعال شدن انکوژن‌ها معمولاً در مراحل پیشرفت تومور اتفاق می‌افتد و در ایجاد بدخیمی دخیل هستند (۲۴،۲۳) و همچنین با توجه به ارتباط گزارش شده بین افزایش بیان *EGFR* و عود تومور و متاستاز به کبد نتایج به دست آمده از این مطالعه نیز احتمال وجود ارتباط بین افزایش بیان *EGFR* و مراحل پیشرفته تومور را تأیید می‌کند (۲۵).

بیومارکر احتمالی در سرطان مری در جمعیت ایرانی  
استفاده نمود.

به‌طور کلی جهت یافتن دلیل اصلی افزایش بیان  
*EGFR* در بیماران مبتلا به سرطان مری تحقیقات و  
پژوهش‌های بیشتر و عمیق‌تری بر روی تعداد بیشتری از  
جمعیت ایرانی مورد نیاز است. هرچند دلیل احتمالی را  
می‌توان مهار فعالیت (Focal Adhesion Kinase= FAK)  
در سلول‌های تومور انسانی ذکر نمود (۲۶).

### تشکر و قدردانی:

این تحقیق در تاریخ ۱۳۹۳/۹/۱۷ (۲۱۸۸۴۶۳)  
در مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران به ثبت رسیده  
و در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل انجام  
گردید که در اینجا از آقای دکتر سید کاظم صباغ تشکر  
و قدردانی می‌گردد.

### نتیجه گیری:

*EGFR* در افراد بیمار نسبت به گروه کنترل  
افزایش بیان نشان داد که شاید بتوان از آن به‌عنوان

### منابع:

1. Motalleb G, Pourrahmat E, Rashki A, Moghadam AY, Mazaheri M, Jahantigh M, et al. Epidermal growth factor receptor gene expression evaluation in colorectal cancer patients. *Indian J Cancer*. 2014; 51(3): 358.
2. Rafiemanesh H, Maleki F, Mohammadian-Hafshejani A, Salemi M, Salehiniya H. The trend in histological changes and the incidence of esophagus cancer in Iran (2003–2008). *Int J Prev Med*. 2016; 7(5): 31-3.
3. Malekzadeh R, Semnani SH, Sajadi AR. Esophageal cancer in Iran. *Govaresh J*. 2008; 13(1): 25-34.
4. Kamangar F, Malekzadeh R, Dawsey S.M, Saidi F. Esophageal cancer in Northeastern Iran. *Arch Iran Med*. 2007; 10(5): 70-82.
5. Mao W-M, Zheng W-H, Ling Z-Q. Epidemiologic risk factors for esophageal cancer development. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011; 12(10): 2461-6.
6. Noori Dalooi M, Maheralnaghsh R, Sayah M. Molecular genetics and gene therapy in esophageal cancer. *Tehran Univ Med J*. 2011; 69(4): 6-15.
7. Ingravallo G, Dall'Olmo L, Segat D, Fassan M, Mescoli C, Dazzo E, et al. CDX2 hox gene product in a rat model of esophageal cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2009; 28(1): 108.
8. Brunicardi F, Andersen D, Billiar T, Dunn D, Hunter J, Matthews J, et al. *Schwartz's principles of surgery*, 10e. USA: McGraw-Hill; 2014.
9. Vegh I, De-La-Calle Santiuste A, Colina F, Bor L, Bermejo C, Aragón A, et al. Relationship between biomarker expression and allelic alteration in esophageal carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22(12): 2303-9.
10. Delektorskaya W, Chemeris G.y, Kononets PV, Grigorchuk AY. Clinical Significance of hyperexpression of *EGFR* and HER-2 in esophageal squamous cell Carcinoma. *Bull Exp Biol Med*. 2009; 148(5): 230-41.
11. Homs MY, Voest EE, Siersema PD. Emerging drugs for esophageal cancer. *Expert Opin Emer Drugs*. 2009; 14(2): 329-39.
12. Jing Z, Gong L, Xie C-Y, Zhang L, Su H-F, Deng X, et al. Reverse resistance to radiation in KYSE-150R esophageal carcinoma cell after epidermal growth factor receptor signal pathway inhibition by cetuximab. *Radiother Oncol*. 2009; 93(3): 468-73.
13. Tabatabaie yazdi M, Zarini GH, Sepehri zadeh Z, Ghasemian A. Gene cloning and DNA analysis an introduction. Tehran: Khaneh zist Shenasi Pub. 2007; 22(5): 467.
14. Zhang F, Wang Z-m, Liu H-y, Bai Y, Wei S, Li Y, et al. Application of RT-PCR in formalin-fixed and paraffin-embedded lung cancer tissues. *Acta Pharmacol Sin*. 2010; 31(1): 111-7.

15. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001; 25(4): 402-8.
16. Vandesompele J, De Paepe A, Speleman F. Elimination of primer-dimer artifacts and genomic coamplification using a two-step SYBR green I real-time RT-PCR. *Anal Biochem*. 2002; 303(1): 95-8.
17. Larysz D, Kula D, Kowal M, Rudnik A, Jarzab M, Blamek S, et al. Epidermal growth factor receptor gene expression in high grade gliomas. *Folia Neuropathol*. 2011; 49(1): 28-38.
18. Jahanbani J, Shahsavari F, Bahadori K. Evaluation of *EGFR* Expression in Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC). *Res Dent Sci*. 2013; 9(4): 213-8.
19. Ho-Pun-Cheung A, Assenat E, Bascoul-Mollevis C, Bibeau F, Boissière-Michot F, Cellier D, et al. *EGFR* and *HER3* mRNA expression levels predict distant metastases in locally advanced rectal cancer. *Int J Cancer*. 2011; 128(12): 2938-46.
20. Ayyappan S, Prabhakar D, Sharma N. Epidermal growth factor receptor (*EGFR*)-targeted therapies in esophagogastric cancer. *Anticancer Res*. 2013; 33(10): 4139-55.
21. Abedi-Ardekani B, Dar NA, Mir MM, Zargar SA, Lone MM, Martel-Planche G, et al. Epidermal growth factor receptor (*EGFR*) mutations and expression in squamous cell carcinoma of the esophagus in central Asia. *BMC cancer*. 2012; 12(1): 602.
22. Lu X, van der Straaten T, Tiller M, Li X. Evidence for qualified quantitative mRNA analysis in formalin-fixed and paraffin-embedded colorectal carcinoma cells and tissue. *J Clin Lab Anal*. 2011; 25(3): 166-73.
23. Sanford D, Bertagnolli M. Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2009; 361(10): 2449-60.
24. Croce CM. Oncogenes and cancer. *N Engl J Med*. 2008; 358(5): 502-11.
25. LeGolvan MP, Resnick M. Pathobiology of colorectal cancer hepatic metastases with an emphasis on prognostic factors. *J Surg Oncol*. 2010; 102(8): 898-908.
26. Lu Z, Jiang G, Blume-Jensen P, Hunter T. Epidermal growth factor-induced tumor cell invasion and metastasis initiated by dephosphorylation and downregulation of focal adhesion kinase. *Mol Cell Biol*. 2001; 21(12): 4016-31.



## **EGFR expression evaluation in esophageal cancer patients**

Mir Z<sup>1</sup>, Motaleb GR<sup>2\*</sup>, Mazaheri M<sup>3</sup>, Najafi S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Biology Dept., University of Zabol, Educational International Campus, Zabol, I.R. Iran;

<sup>2</sup>Biology Dept., University of Zabol, Zabol, I.R. Iran; <sup>3</sup>Genetics Dept., Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, I.R. Iran.

Received: 2/Jul/2016 Accepted: 20/Dec/2016

**Background and aims:** Esophageal cancer is the eighth most common cancer and the sixth leading cause of cancer death worldwide. In Iran, esophageal cancer is the second and third most common cancer in the men and women, respectively. The epidermal growth factor receptor (*EGFR*) is a receptor of tyrosine kinase from the ErbB family, with its disorder in the pathophysiology of many epithelial malignancies, including esophageal cancer, and is the important agent in prognosis and clinical progression of the disease. In this research project, the *EGFR* expression was investigated in Iranian patients with esophageal cancer using the qRT-PCR.

**Methods:** This research was a cohort historical study. Thirty paraffin-embedded tissue samples of normal esophageal and cancer tissues were analyzed to measure the *EGFR* expression. PCR reactions for *EGFR* and  $\beta$ -actin were carried out by Livac method. All data were analyzed by SPSS software.

**Results:** The results showed a significant difference between the *EGFR* expression in patients compared to control group ( $P < 0.05$ ). The *EGFR* overexpression in patients was 4.25 times higher compared to healthy group.

**Conclusion:** *EGFR* increased in the patients compared to the control group, which may be used as a potential biomarker for esophageal cancer in the Iranian population.

**Keywords:** Esophageal cancer, *EGFR*, RT-qPCR.

**Cite this article as:** Mir Z, Motaleb G, Mazaheri M, Najafi S. *EGFR* expression evaluation in esophageal cancer patients. J Shahrekord Univ Med Sci. 2018; 19(6): 48-56.

---

**\*Corresponding author:**

Biology Dept., University of Zabol, Zabol, I.R. Iran. Tel: 00989386902201,  
E-mail: reza.motaleb@uoz.ac.ir